

学校编码: 10384

分类号\_\_\_\_\_密级\_\_\_\_\_

学号: 20120051302094

UDC \_\_\_\_\_

廈門大學

硕 士 学 位 论 文

PP2B和PP1  $\alpha$  协同作用激活正性转录延伸因子P-TEFb的机制

PP2B and PP1 $\alpha$  cooperatively disrupt 7SK snRNP to  
release P-TEFb for transcription in response to  
Ca<sup>2+</sup> signaling

李 焕

指导教师姓名: 陈瑞川 副教授

专 业 名 称: 生物化学与分子生物学

论文提交日期: 2008 年 06 月 27 日

论文答辩时间: 2008 年 08 月 02 日

学位授予日期: 2008 年 月

答辩委员会主席: 王义权 教授

评 阅 人: \_\_\_\_\_

2008 年 6 月

## 厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为( )课题(组)的研究成果,获得( )课题(组)经费或实验室的资助,在( )实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名):

年 月 日

## 厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

（        ） 1. 经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，  
于        年        月        日解密，解密后适用上述授权。

（        ） 2. 不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年        月        日

# 目录

1 前言	1
1.1 真核基因转录	1
1.2 正性转录延伸因子 b(P-TEFb) 的结构与功能以及活性调控方式	4
1.3 钙离子信号途径与基因转录的关联	8
1.4 蛋白磷酸酶 1	10
1.5 本课题研究的目标、内容和意义	11
2 材料与方法	12
2.1 实验药品、试剂与仪器	12
2.2 实验方法	14
3 结果与分析	28
3.1 UV 和 HMBA 能诱导 CDK9 上的 T186 位点去磷酸化和 7SK snRNP 的解离	28
3.2 PP1 和 PP2B 的抑制剂能阻断 UV 和 HMBA 诱发的 T186 去磷酸化和 7SK snRNP 的解离	29
3.3 PP1 和 PP2B 都是造成 T186 的去磷酸化和 7SK snRNP 的解离所必需的	31
3.4 PP1 和 PP2B 直接造成 T186 的去磷酸化和 7SK snRNP 的解离, 而且它们的作用有严格的次序	33
3.5 T186 去磷酸化的 P-TEFb 是没有激酶活性的, 但是它能结合 Brd4	37
4 讨论	40
5 参考文献	42
致谢	54

## Catalogue

<b>1 Forewords</b>	<b>1</b>
1. 1 Eukaryotic gene transcription	1
1.2 The structure, function and activation of P-TEFb	4
1. 3 role of calcium pathway in transcription	8
1.4 PP1(Protein Phosphatase-1)	10
1.5 The content and purport of out research	11
<b>2 Materials and methods</b>	<b>12</b>
2. 1 Materials	12
2. 2 Methods	14
<b>3 Results and analysis</b>	<b>28</b>
3.1 UV and HMBA induce the disrupt of 7SK snRNP and dephosphorlate T186 at CDK9	28
3.2 PP1and PP2B block the disruption of 7SK snRNP and dephosphorylation of T186 which are induced by UV and HMBA	29
3.3 P PP1 $\alpha$ and PP2B are necessary for the disruption of 7SK snRNP and dephosphorylation of CDK9	31
3.4 PP2B and PP1 $\alpha$ sequentially and directly dissociate HEXIM1 from P-TEFb	33
3.5 Brd4 binds with dephosphorylated P-TEFb, which is no kinase activation	37
<b>4 Discussion</b>	<b>40</b>

<b>5 References</b> .....	42
---------------------------	----

<b>Acknowledgement</b> .....	54
------------------------------	----

厦门大学博硕士论文摘要库

## 英文缩略语对照表

Abbreviation	Full Name
7SK snRNP	7SK small nuclear ribonucleoprotein, Hexim1/7SK/ P-TEFb
Act D	Actinomycin D
CA-CnA*	Constitutively active form of calcineurin A
CAK	CDK-activating kinase
Cal A	Calyculin A
CaM	calmodulin
CaMK	calmodulin dependent kinase
CaN	Calcineurin
CIP	Calf intestinal alkaline phosphatase
CnB	Calcineurin B
CsA	Cyclosporine A
CTD	C-terminal domain
DRB	5,6-dichloro-1-b-D-ribofuranosyl-benzimidazole
DSIF	DRB-sensitivity inducing factor
GTF	General transcription factor
HIV-1	Human immunodeficiency virus type 1
HMBA	Hexamethylene bisacetamide
IN-CnA*	Catalytically inactive mutant of calcineurin A
LTR	Long terminal repeats
MCLR	Microcystin LR
NELF	Negative elongation factor
NFAT	Nuclear factor of activated T cells
NRF-1	Nuclear respiratory factor 1
NTEF	Negative transcription elongation factor
PIC	Preinitiation complex

英文缩略语对照表

Pol II	RNA polymerase II
PP1	Protein phosphatase 1
P-TEFb	Positive transcription elongation factor b
snRNP	Small nuclear ribonucleoprotein particle
TAR	Transacting-response
TEC	Transcript elongation complex
TF II (D, B, E, F, & H)	Transcription factor II (D, B, E, F, & H)



## 摘要

在真核生物细胞内, 编码蛋白质基因的转录由 RNA 聚合酶 II (RNA Pol II) 来完成, 其中 RNA 聚合酶 II 最大的亚基称为 Rpb1。Rpb1 的羧基端重复结构域(CTD)磷酸化状态是调节 RNA 聚合酶 II 活性的重要依据<sup>[1]</sup>。在转录过程中, CTD 要经过两步磷酸化才能使转录延伸得以顺利进行。首先, 细胞周期蛋白激酶 CDK7 磷酸化 CTD 的 Ser5 位点, 然后正性转录延伸因子 b (P-TEFb) 磷酸化 CTD 的 Ser2 位点, 此时 RNA 聚合酶 II 才被真正活化<sup>[2-4]</sup>。

P-TEFb 复合体主要由细胞周期蛋白 CyclinT 及细胞周期蛋白激酶 CDK9 组成, 它能磷酸化 RNA 聚合酶 II 从而促进真核细胞的转录延伸。为了适应不同的生长条件和转录要求, P-TEFb 通常以一种非活化态的 7SK snRNP 复合体 (包括 7SK RNA, HEXIM1 和 P-TEFb) 的形式存在<sup>[5]</sup>。当在特定的压力条件或发生某些病变时, 通过某些未知的信号途径来控制 P-TEFb 从 7SK snRNP 复合体中解离出来而激活转录。

本文中, 我们通过 UV 或 (hexamethylene bisacetamide) HMBA 等压力条件诱导 P-TEFb 从 7SK snRNP 复合体中解离的模型, 发现  $\text{Ca}^{2+}$ -calmodulin-protein phosphatase 2B (PP2B) 信号途径在 P-TEFb 从 7SK snRNP 复合体中解离起了重要作用。但是, 单独的钙离子信号途径还是不够的, PP2B 必需与蛋白磷酸酶 1  $\alpha$  (PP1  $\alpha$ ) 的协同作用才能使 7SK snRNP 解离, 并且使 P-TEFb 中 CDK9 上茎环结构中最关键的第 186 位苏氨酸磷酸化位点 (T186) 去磷酸化。而且 PP2B 和 PP1 两者的协同作用不是简单的一起作用, 是有严格的先后及主次作用顺序的。通过 PP2B 诱导 7SK snRNP 复合体构象的改变, 从而促进 PP1  $\alpha$  去磷酸化 P-TEFb 中 CDK9 上的 T186, 使 P-TEFb 从 7SK snRNP 复合体中解离出来。随后, 去磷酸化的 P-TEFb 与另外一个叫 Brd4 (bromodomain protein) 的蛋白结合, 并被 Brd4 组装到转录前复合体 (PIC) 上。随后 CDK9 又重新被磷酸化而激活, 进一步磷酸化 RNA 聚合酶 II 上的 CTD 激活转录延伸。

**关键词:** 正性转录延伸因子 b; 钙离子信号; 蛋白磷酸酶 1  $\alpha$

## Abstract

In eukaryotic cells, the transcription of messenger RNA (mRNA) from protein-coding genes is performed by RNA polymerase II. Two major forms of RNA Pol II exist in eukaryotic cells: the hypophosphorylated Pol IIa or the hyperphosphorylated RNA Pol IIo. In Pol IIo, the carboxy-terminal domain (CTD) of the largest subunit (Rpb1) of Pol II is extensively phosphorylated. In eukaryotes, two major cyclin-dependent kinases, CDK7, and CDK9 specifically target and phosphorylate the CTD of RNA Pol II. While CDK7 phosphorylates Ser5 of the CTD, CDK9 targets Ser2 for phosphorylation.

To accommodate different growth conditions and transcriptional demands, a reservoir of P-TEFb is kept in an inactive state in the multisubunit 7SK snRNP. Under certain stress or disease conditions, P-TEFb is released to activate transcription, although the signaling pathway(s) that controls this is largely unknown. Here, through analyzing the UV- or hexamethylene bisacetamide (HMBA)-induced release of P-TEFb from 7SK snRNP, an essential role for the calcium ion ( $\text{Ca}^{2+}$ )-calmodulin-protein phosphatase 2B (PP2B) signaling pathway is revealed. However,  $\text{Ca}^{2+}$  signaling alone is insufficient, and PP2B must act sequentially and cooperatively with protein phosphatase 1 $\alpha$  (PP1 $\alpha$ ) to disrupt 7SK snRNP. Activated by UV/HMBA and facilitated by a PP2B-induced conformational change in 7SK snRNP, PP1 $\alpha$  releases P-TEFb through dephosphorylating phospho-Thr186 in the Cdk9 T-loop. This event is also necessary for the subsequent recruitment of P-TEFb by the bromodomain protein Brd4 to the preinitiation complex, where Cdk9 remains unphosphorylated and inactive until after the synthesis of a short RNA. Thus, through cooperatively dephosphorylating Cdk9 in response to  $\text{Ca}^{2+}$  signaling, PP2B and PP1 $\alpha$  alter the P-TEFb functional equilibrium through releasing P-TEFb from 7SK snRNP for transcription.

**Keywords:** P-TEFb;  $\text{Ca}^{2+}$  signaling; PP1 $\alpha$

## 1 前言

在真核细胞中, 基因的转录表达由 RNA 聚合酶 II (RNA Pol II) 介导<sup>[6]</sup>, 这是一个复杂而精密的过程, 大致可分为五个紧密相连的阶段: 转录起始前、转录起始、启动子的清扫、延伸和终止<sup>[7,8]</sup>。以前的研究主要集中于揭示转录起始前复合体的组装、转录起始及启动子区清扫的精细过程, 并籍此发现了大量转录前期所必须的基础转录因子和调控元件。但对转录延伸阶段的调控却很少予以关注。造成这种现象的原因主要在于, 长期以来人们一直错误地认为真核基因的转录延伸是不受调控的简单的 mRNA 合成延伸过程。一直到最近几年, 人们才逐渐认识到转录延伸过程也具有严格的调控机制, 并与 mRNA 加帽、剪辑和加尾等过程相关联<sup>[8]</sup>。研究人员发现在 RNA Pol II 调控基因转录表达的过程中, 存在一个正性转录延伸因子 b (P-TEFb), 它不仅控制了细胞内绝大多数基因的转录表达, 同时它还与艾滋病、心脏肥大及肿瘤等恶性疾病的发病机理相关联。但是目前对于 P-TEFb 活性调控机制的研究相对滞后, 本文的研究致力于揭示 P-TEFb 的活性调控, 为进一步阐释真核基因转录调控的机理, 解释相关疾病的成因提供一定的理论依据。

### 1.1 真核基因转录

#### 1.1.1 转录周期

真核基因的转录是一个复杂、紧密衔接以及多方面协调进行的过程 (如图 1.1)。首先, 转录起始前, 通用转录因子 TFIID 以及包含 Pol II、GTF、SRB (RNA 聚合酶 B 突变体抑制子)<sup>[9-12]</sup> 等的全酶组分结合到核心启动子区, 形成稳定的转录前起始复合体 (PIC)<sup>[13-15]</sup>。同时双链 DNA 解开生成单链转录泡, 以便 Pol II 能顺利的结合到 DNA 模板上形成开放复合体。此后 Pol II 开始将启动子区暴露出来<sup>[16]</sup>, 随后 PIC 部分解体。仍滞留在启动子区的转录因子如 TFIID 作为空间的结构骨架帮助形成新的转录起始复合体, 防止不完整转录的产生<sup>[17-21]</sup>; 最终只有 TFIIF 能保留到转录延伸复合体 (TEC) 中<sup>[17]</sup>。当新生的 RNA 延伸至 7nt 时 RNA 与 DNA 模板重新配对; 而当 RNA 延伸到 23nt 时, 开始形成稳定的 TEC 并处于抑制状态, 转录暂时停滞<sup>[22, 23]</sup>。此时 RNA Pol II 的第五位丝氨酸 (Ser5) 磷酸化的 CTD 能结合加帽酶并增强其活性使新生的 RNA 链 5' 端加帽<sup>[24-26]</sup>, 其后 TEC 从抑制状态转变为活化状态, Pol II CTD 第二位丝氨酸 (Ser2) 也进一步磷酸化,

转录重新启动，全长的 RNA 开始延伸<sup>[27]</sup>。高度磷酸化的 CTD 可以结合 RNA 剪辑复合体<sup>[28-32]</sup>以及 3' 末端切除、加 polyA 尾巴相关的蛋白并上调他们的活性<sup>[33-36]</sup>，从而使新生的 RNA 成熟，转录终止，全长 RNA 产物释放出来。因此，真核细胞的转录是一个 RNA 延伸和 RNA 加工同时进行的过程，并不是转录后再进行加工修饰的。同时，我们可以发现完整的真核基因转录调控过程的实质是围绕 Pol II 活性调控而进行的，并通过 Pol II 上特殊结构域结合特定蛋白执行相应的功能实现转录的周期循环。

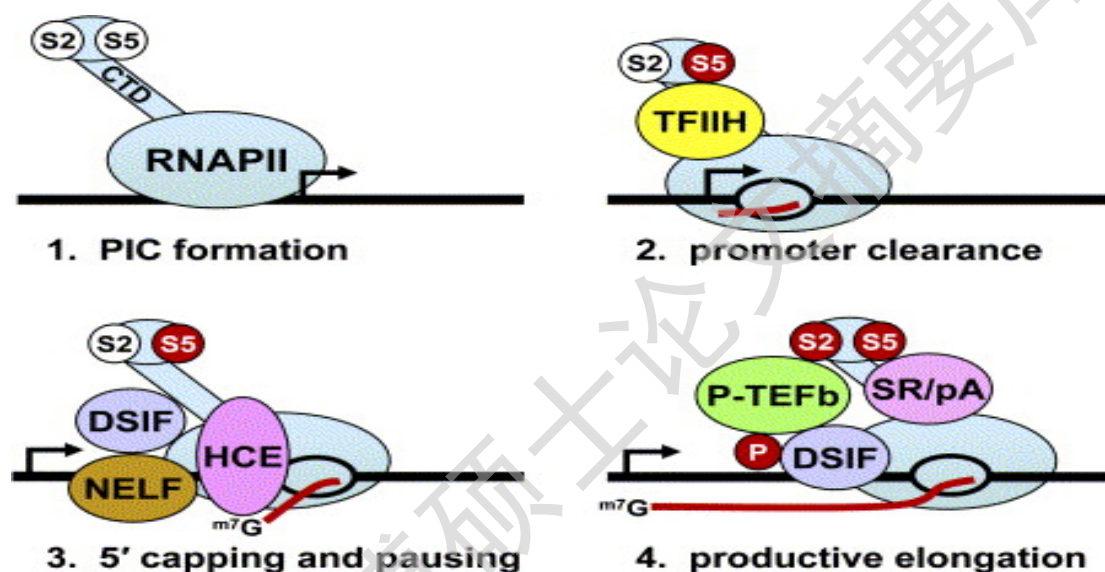


图 1.1 RNA Pol II CTD 调控的真核基因转录周期<sup>[37]</sup>。

Fig 1.1 Steps of transcription mediated by RNA Pol II in eukaryotes<sup>[37]</sup>.

### 1.1.2 RNA 聚合酶 II (RNA Pol II) 及其羧基末端 CTD 结构域

RNA 聚合酶 II 存在于细胞核质中，主要负责所有 mRNA 及一些小核 RNA 的合成。RNA 聚合酶 II 至少含有 12 个亚基，Pol II 大亚基 Rpb1 的 C 末端比 Pol I 和 Pol III 多出一个进化上高度保守的 CTD 结构域，它是由 7 个氨基酸 YSPTSPS (Tyr-Ser-Pro-Thr-Ser-Pro-Ser) 构成的重复多肽串连而成。不同种属间这段多肽重复序列的拷贝数不同，比如啤酒酵母的 Pol II CTD 含 26 个拷贝、线虫 32 个、果蝇 42 个而哺乳动物有 52 个。此外，Pol II 要具备完整功能，其拷贝数也有最低限度要求。例如人类细胞能存活至少需 28 个拷贝，酵母为 9 个；而拷贝数在 9~20 之间的酵母突变体对低温较敏感，且出现多数基因转录缺陷<sup>[38, 39]</sup>；仅有 39 个拷贝的老鼠生长退化或新生期死亡率增加<sup>[40]</sup>。由此可见，CTD 所含 7

肽重复序列的完整性是至关重要的。

### 1.1.3 CTD 的磷酸化周期

在转录过程中, Pol II CTD 会经历磷酸化和去磷酸化的循环周期<sup>[41]</sup> (如图 1.2)。在刚开始的PIC中Pol II处于低磷酸化状态, 转录一经开始真核细胞中的三个高度保守的激酶CDK7、CDK8和CDK9就能特异性地磷酸化CTD<sup>[2, 42]</sup>。CDK8功能尚不明确, 只知道是中介复合物复合体的组分, 作为其他转录活化因子的桥联蛋白, 能磷酸化CTD<sup>[6, 43, 44]</sup>。CDK7是TFIIH的组分之一, 它与Cyclin H、Mat1形成三元复合体CAK能够磷酸化别的CDK, 包括CDK1、CDK2、CDK4和CDK6, 从而来调控细胞周期<sup>[45]</sup>; 但当CAK与TFIIH中其它组分形成复合体后, 其底物特异性发生变化, 只能磷酸化CTD。当CDK7磷酸化CTD上7肽重复序列的Ser5后<sup>[46]</sup>, 转录即被启动, RNA Pol II发生构象变化, 从PIC中脱离, 同时启动子区彻底暴露, Pol II 开始合成RNA; 但当转录进行到20–30nt时, 转录被暂停, 新生RNA被加帽。加帽完成后, CDK9磷酸化CTD上7肽重复序列的Ser2, 使暂停的转录重新启动。转录结束后, Pol II从DNA模板上解离下来, Pol II特异性蛋白磷酸酶FCP1将已经高度磷酸化的CTD去磷酸化<sup>[47–51]</sup>, 使RNA Pol II可重新进入新一轮的转录。因此, CTD除长短被严格控制外, 其磷酸化水平的高低以及磷酸化位点的迥异也是调控Pol II所介导的真核基因转录的重要一环。

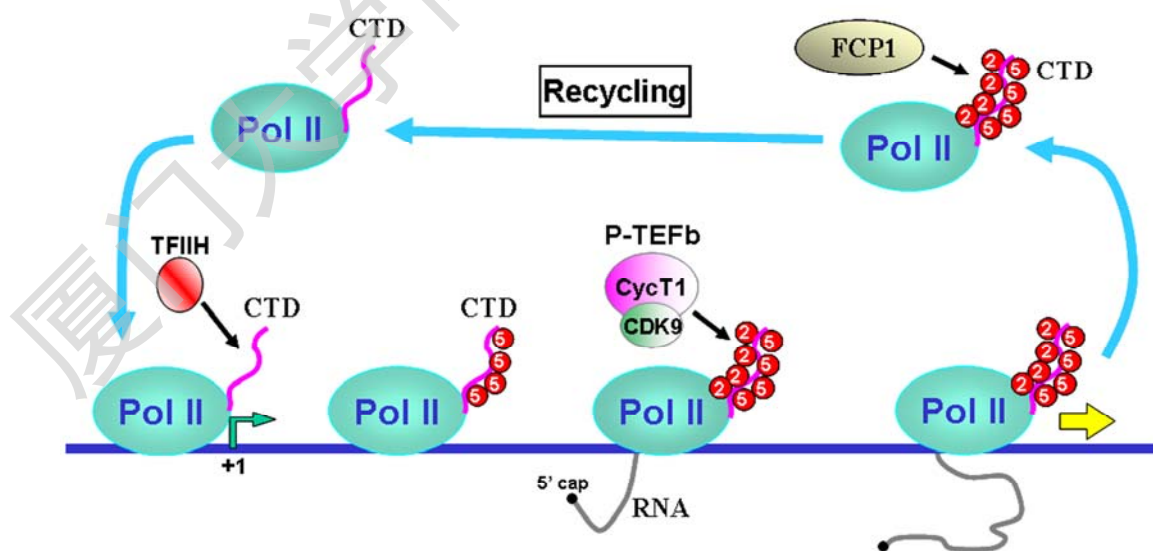


图 1.2 RNA Pol II CTD 磷酸化周期。

Fig 1.2 The phosphorylation cycle of the CTD in the large subunit of RNA Pol II.

## 1.2 正性转录延伸因子 b (P-TEFb) 的结构与功能以及活性调控方式

正性转录延伸因子 b (Positive Transcription Elongation Factor b, P-TEFb) 是研究一种 ATP 类似物 DRB (5,6-dichloro-1- $\beta$ -D-ribofuranosylbenzimidazole) 对转录的影响时被发现。当研究人员用 DRB 处理细胞时发现 mRNA 转录水平显著下降, 且产物多是加帽修饰过的不完整 mRNA 短片断<sup>[52]</sup>。在随后创建的果蝇基因转录模型中, 首次确立了 P-TEFb 能够解除转录延伸早期停滞的抑制<sup>[53]</sup>, 并证实 P-TEFb 就是 DRB 的靶蛋白<sup>[54]</sup>。

### 1.2.1 P-TEFb 的结构

人类的 P-TEFb 是由细胞周期蛋白依赖性激酶 CDK9 及其调节亚基 Cyclin T 组成的异二聚体<sup>[55, 56]</sup>, 其中 CDK9 又分别有 42 kDa 和 55 kDa 两种异构体<sup>[57]</sup>, 其中 55 kDa 的 CDK9 的 N 端比 42 kDa 多出 117 个氨基酸<sup>[57]</sup>。而 Cyclin T 可分为 Cyclin T1、Cyclin T2a、Cyclin T2b 三种<sup>[58]</sup>。Cyclin T1 与 Cyclin T2 的 N 端 cyclin 区有 80% 的相似性, Cyclin T2a 与 Cyclin T2b 则只是因为 mRNA 的剪辑不同使羧基端略有差异。人类细胞中 80% 的 P-TEFb 复合体是由 42 kDa 的 CDK9 与 Cyclin T1 组成<sup>[3, 55, 56]</sup>, 剩下约 10%~20% 由 CDK9 与 Cyclin T2 组成<sup>[58]</sup>, 也有少量由 CDK9 与 Cyclin K 形成的异二聚体<sup>[59]</sup>。通常 P-TEFb 复合体的两个亚基不会单独存在<sup>[57]</sup>, 只有形成异二聚体后 CDK9 才具备激酶活性。

P-TEFb 复合体为绝大部分编码蛋白基因表达所必须, 是调控全局性基因转录的基本转录因子<sup>[60]</sup>。用 RNAi 下调线虫 P-TEFb 复合体会导致大量胚胎早期基因表达缺陷, 线虫的发育停滞在 100 个细胞期<sup>[61]</sup>。然而, 并非所有的基因转录都依赖于 P-TEFb 复合体, p53 信号途径中个别基因的转录就会绕过 P-TEFb 复合体的调控<sup>[62]</sup>, 同样缺少内含子的组蛋白 H2b 和 U2 snRNA 也不需要它<sup>[63]</sup>。

### 1.2.2 P-TEFb 的功能

#### 1.2.2.1 P-TEFb 在 RNA 聚合酶 II 转录延伸中的作用

虽然 P-TEFb 与细胞周期调控的关系还不十分清楚, 但是有关 P-TEFb 在真核基因转录延伸中的作用已经成为研究热点。研究表明 P-TEFb 能够磷酸化 RNA 聚合酶 II 大亚基 Rpb1 的 CTD。但是激酶活性研究分析表明 P-TEFb 更倾向于磷酸化已经部分磷酸化的 CTD<sup>[27]</sup>, 这与前面所述 RNA 聚合酶 II 的磷酸化循环一致, 来自

TFIIH 的 CDK7 磷酸化 CTD 的 Ser5 后 RNA 聚合酶 II 的转录开始，之后在负性转录因子 DSIF 和 NELF 作用下转录暂停，直至 P-TEFb 的 CDK9 磷酸化 CTD 中的 Ser2，转录延伸继续进行<sup>[3,4]</sup>。P-TEFb 磷酸化 CTD 的同时，也磷酸化负性转录延伸因子 DSIF 和 NELF，使得 NELF 从转录复合物中解离下来，解除转录抑制，DSIF 转变成正性转录因子，随转录复合物进行 mRNA 的全长转录（如图 1.3）。

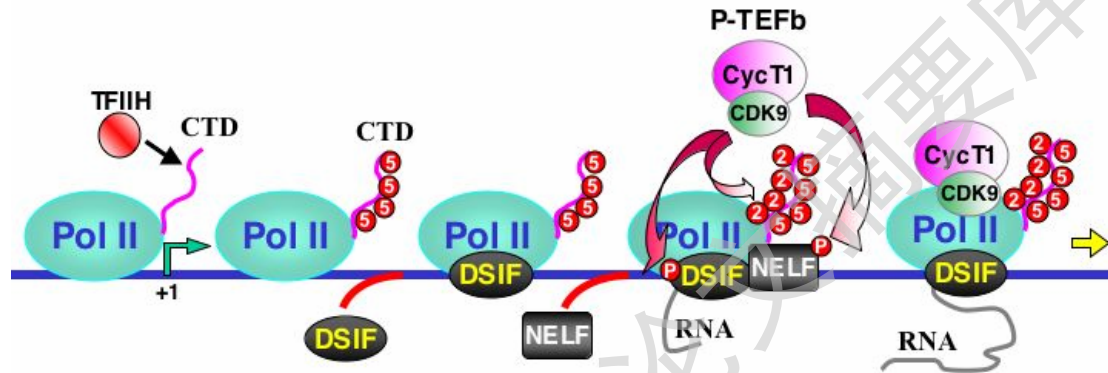


图 1.3 P-TEFb 复合体促进基因转录延伸的模式图。

**Fig 1.3 P-TEFb phosphorylates the Pol II CTD and negative elongation factors to stimulate processive elongation.**

#### 1.2.2.2 P-TEFb 复合体在 HIV-1 转录中的作用

尽管 P-TEFb 复合体隶属于基础转录因子，但研究显示 P-TEFb 复合体同时也能够为 HIV-1 病毒所利用<sup>[60,64]</sup>。它被巧妙地摄取到完整的原病毒 DNA 模板上作为特异性的转录共活化因子，起始 HIV-1 长末端重复（LTR）序列后病毒编码基因的转录（如图 1.4）。

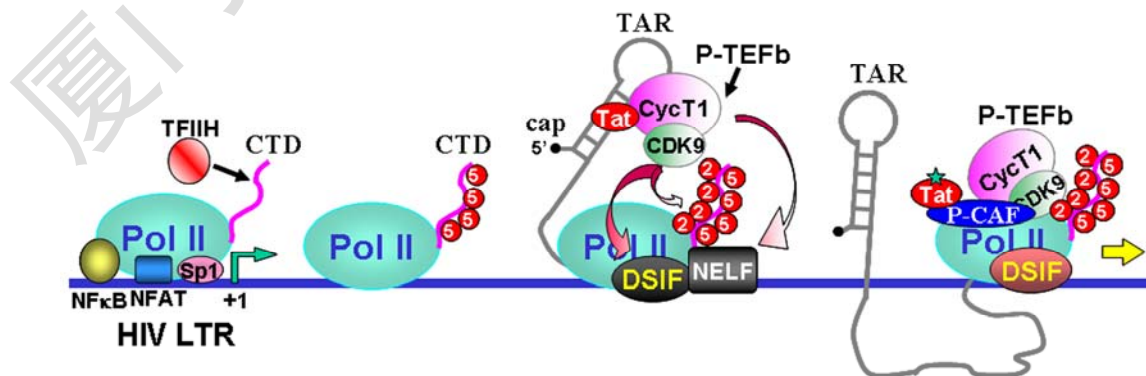


图 1.4 P-TEFb 复合体协助 Tat 蛋白完成 HIV-1 转录。

**Fig 1.4 P-TEFb enhance Tat activation of HIV-1 transcription.**



P-TEFb 复合体通过 HIV-1 编码的一个小的调控蛋白 Tat, 被带到新生的病毒转录产物 5' 末端的一个叫做 TAR 的 RNA 茎环结构区, 从而活化 HIV-1 转录延伸, 大幅度增强全长病毒基因组的转录<sup>[65-67]</sup>。

### 1.2.2.3 P-TEFb 与心肌肥大

除参与 HIV-1 原病毒的复制和潜伏后期的爆发外, P-TEFb 复合体与心肌肥大有关系。通常心脏的负荷增加和机能减弱都会代偿性的引发心肌肥大, 并表现出房室壁增厚和张力增强<sup>[68,69]</sup>, 它需要翻译过程和转录过程协同活化, 前者主要牵涉参与核糖体 S6 蛋白磷酸化的 p70 S6 激酶<sup>[70,71]</sup>, 后者则经由 P-TEFb 复合体引发细胞全局性的 RNA 含量激增。许多心肌肥大的刺激因子短期作用就能活化 CDK9, 并引发 7SK snRNA 从 P-TEFb 复合体上解离。在小鼠实验中, 敲除 HEXIM1 会引起小鼠心肌肥大样病变型的胚胎期致死<sup>[72]</sup>, 抑制 CDK9 的活性却能消除内皮素 1 引起的心肌过度生长<sup>[73-76]</sup>。

### 1.2.3 P-TEFb 的活性调控模式

对 P-TEFb 的活性调控是通过活化态和非活化态之间的相互转化来实现的。对数生长期的 HeLa 细胞核内有一半 P-TEFb 复合体是处于非活化状态的, 非活化态的 P-TEFb 是结合了 HEXIM1 蛋白和 7SK snRNA 的 7SK snRNP 复合体<sup>[64,77]</sup>, 它是由单个分子的 7SK snRNA 和两分子的 HEXIM1 蛋白及双分子的 P-TEFb 复合体构成的大分子复合物<sup>[78-80]</sup>。全长 331nt 的 7SK 核小 RNA (7SK snRNA) 由 RNA Pol III 负责转录, 脊椎动物中高度保守, 在人类细胞中含量也十分丰富<sup>[81-83]</sup>。HEXIM1 最早作为血管平滑肌细胞中 HMBA 可诱导蛋白被发现, 多种细胞类型中均有表达并能抑制细胞和组织的生长<sup>[5,80,84,85]</sup>, 其对 P-TEFb 复合体的抑制作用必需依赖于与 7SK snRNA 的结合。7SK snRNA 作为空间结构上的骨架, 先结合 HEXIM1 蛋白于 5' 端发卡结构的 G24-C48/G60-C87, 再结合 P-TEFb 复合体于 3' 端发卡结构的 G302-C324, 形成了较大的抑制态 7SK snRNP 复合体<sup>[82]</sup>。除 HEXIM1 蛋白外, 研究还发现另一同源蛋白 HEXIM2 也能参与 7SK snRNP 复合体的构建。为了维持体内非活化态 P-TEFb 的稳定, HEXIM1 和 HEXIM2 是可以互补的, 当体内 HEXIM1 的含量降低时 HEXIM2 就会相应增加。

除了非活化态的 P-TEFb 外, 细胞体内还有另外一半活化态的 P-TEFb。而这部分 P-TEFb 并不是游离的 CDK9/Cyclin T 异二聚, 而是结合了并外一种被称为



Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to [etd@xmu.edu.cn](mailto:etd@xmu.edu.cn) for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库